Iranian Food Science and Technology
Research Journal
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir

Research Article
Vol. 20, No. 4, Oct.-Nov. 2024, p. 447-463

Investigating the Effect of Chitosan Coating Along with Ginger Essential oil on Shelf life of Salmon Fish in Refrigerator Temperature

E. Mehrabi[1], M. Bonyadian[2*], A. Fallah[2]
1 and 2- M.Sc. and Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: boniadian@sku.ac.ir)

Received: 07.12.2023 Revised: 05.01.2024 Accepted: 04.02.2024 Available Online: 05.02.2024	**How to cite this article:** Mehrabi, E., Bonyadian, M., & Fallah, A. (2024). Investigating the effect of chitosan coating along with ginger essential oil on shelf life of salmon fish in refrigerator temperature. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 20*(4), 447-463. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj. 2024.85460.1300

Introduction

Recently, the use of new packaging materials and natural additives for improving the durability and preservation of foods has been increasingly considered. Edible coatings containing plant extracts lead to increase the shelf life of food, do not cause environmental contamination, and do not endanger the health of the consumer. Fish is a food rich in amino acids, vitamins and minerals, and polyunsaturated fatty acids, especially omega-3, which has made it more and more popular in the human diet. However, the presence of a significant amount of polyunsaturated fatty acids as well as easily digestible proteins has turned fish into a highly perishable commodity. Fresh seafood spoils rapidly due to the enzymatic and bacterial activities that occur after death, as well as the spoilage caused by the oxidation of polyunsaturated fatty acids and the high concentration of hematin compounds and metal ions of fish muscle, such as iron, and their pH which is close to neutral. Therefore, the use of natural coatings that can increase the shelf life of food and attract the consumers should be given more attention. Iran is the largest fishery producer in the region, thus, providing new methods to increase the shelf life of these products until the time of consumption can guarantee the safety and be effective in the economic prosperity of this industry. Therefore, the present study was designed to investigate the effect of chitosan coating along with the volatile oil of ginger plant on the shelf life of salmon fillets stored in refrigerator to reduce microbial growth, reduce chemical reactions, and increase the storage life of salmon fillets in refrigerator.

Material and Methods

Rainbow trout fish with an approximate weight of 600 grams were purchased from the market. Fish were washed with sterile distilled water, and cut into 60-gram pieces after separating the head and tail and eviscerating. The prepated fish were randomly divided into 4 groups. The control group was without any treatment but the treatment groups were immersed in chitosan containing different concentrations of Ginger essential oils. All the samples were kept in zipped bags at refrigerator (4°C) for 15 days. Microbial tests (Mesophilic, Psychrophilic, Coliform, and Lactic acid bacteria count), chemical tests (pH, TVN, TBARS), and sensory tests (color, smell, taste, texture, and overall acceptance) were performed on days 1, 4, 7, 12 and 15. The data obtained from the microbial and chemical tests were analyzed by one-way analysis of variance and the data obtained from the sensory tests were analyzed by the Kruskal-Wallis test in Sigma Stat 4 statistical software, considering $P<0.05$.

Results and Discussion

The results of bacterial tests showed that chitosan coating with ginger essential oil had a significant effect on reducing the growth of mesophilic, coliform, lactic acid bacteria and psychrophilic bacteria compared to the control and chitosangroups during 15 days of storage in the refrigerator ($P<0.05$). During the storage period, chitosan-treated

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.85460.1300

groups containing 1.5% and 0.75% of ginger volatile oil had the best microbial quality in terms of mesophilic bacteria, Psychrophilic bacteria, lactic acid- bacteria, and coliforms. Also, in samples immersed in chitosan coating with ginger essential oil, the pH, TVN and TBARS values at the end of the storage period were significantly lower than the control and chitosan group ($P<0.05$). The results showed that pH, TVN, and TBARS did not exceed the defined standard for fish meat at the end of the storage period in the groups treated with ginger volatile oil. Sensory characteristicsindicated that the groups treated with chitosan coating containing ginger essential oils showed better sensory characteristics in terms of color, taste, smell, texture, and overall acceptance than the control and chitosan groups during the storage period ($P<0.05$).

Conclusion

Based on the results of the present study using the chitosan coating combined with ginger volatile oils has antimicrobial and antioxidant properties, which can reduce the oxidation of fats and microbial loads, while maintaining the organoleptic quality and increasing the shelf life of fish meat at refrigerator temperature. In comparison between treated groups, the use of chitosan along with 0.75% volatile oil of ginger is recommended, because by using a smaller amount of volatile oil, the microbial, chemical, and organoleptic properties can be kept at the standard level until the 15th day.

Acknowledgments

The authors are grateful to Shahrekord University's Research Vice-Chancellor for supporting this project.

Keywords: Chitosan coating, Essential oils, Ginger, *Rainbow trout*, Shelf life

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
https://ifstrj.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۴، مهر-آبان ۱۴۰۳، ص. ۴۶۳-۴۴۷

بررسی اثر پوشش کیتوزان به همراه روغن فرار گیاه زنجبیل بر روی ماندگاری ماهی قزل‌آلا در دمای یخچال

الناز مهرابی[۱]- مجتبی بنیادیان[۲*]- عزیز اله فلاح[۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۵

چکیده

پوشش‌های خوراکی حاوی روغن‌های فرار گیاهی باعث افزایش ماندگاری مواد غذایی شده، و سلامت مصرف‌کننده را به خطر نمی‌اندازند. این مطالعه با هدف بررسی پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل بر ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دمای یخچال انجام شد . قزل‌آلای رنگین کمان با وزن تقریبی ۶۰۰ گرم از بازار تهیه و پس از خارج کردن امعاء و احشاء با آب مقطر استریل شسته و به قطعات ۶۰ گرمی تقسیم شدند. نمونه‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند.گروه‌های تیمار در کیتوزان حاوی غلظت‌های مختلف روغن فرار زنجبیل غوطه‌ور شده و سپس در کیسه‌های زیپ‌دار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ روز نگهداری شدند. آزمون‌های میکروبی (تعداد باکتری‌های مزوفیل، سرما دوست، کلی فرم و اسید لاکتیک)، آزمون‌های شیمیایی pH، TVN، TBARS و آزمون‌های حسی (رنگ، بو، طعم، بافت و پذیرش کلی) در روزهای ۱، ۴، ۷، ۱۲ و ۱۵ روی نمونه‌ها انجام شد. نتایج نشان داد که پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل در کاهش رشد باکتری‌های مزوفیل، کلیفرم، اسید لاکتیک و سایکروفیل در مقایسه با گروه شاهد و کنترل کیتوزان، در مدت ۱۵ روز نگهداری در یخچال تأثیر معنی‌داری داشت ($P<0.05$). همچنین در نمونه‌ها با پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل، مقادیر pH، TVN و TBARS در پایان دوره به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد و کیتوزان بود ($P<0.05$). گروه‌های تیمار شده با پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل، از نظر رنگ، طعم، بو، بافت و پذیرش کلی نسبت به گروه شاهد و کیتوزان ویژگی‌های بهتری را در طول روزهای نگهداری نشان دادند ($P<0.05$). بطور کلی استفاده از پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل روش مناسبی برای افزایش زمان ماندگاری ماهی قزل‌آلا در دمای یخچال بوده و مدت زمان ماندگاری آن را تا ۱۵ روز افزایش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: پوشش کیتوزان، روغن فرار، زنجبیل، ماهی قزل آلا، ماندگاری

مقدمه

در سالیان اخیر استفاده از روش‌های جدید بسته‌بندی و افزودنی های طبیعی برای ماندگاری و نگهداری مواد غذایی به‌طور روز افزونی گسترش یافته است (Krochta, 2017). پوشش‌های خوراکی به همراه عصاره‌ی گیاهان بر افزایش ماندگاری مواد غذایی باعث آلودگی محیط زیست نمی‌شوند و ضرری برای مصرف‌کننده نخواهند داشت (Putnik *et al.*, 2018).

پوشش‌های خوراکی عبارتند از افزودن یک لایه نازک از مواد خوراکی (ماده‌ای که در صورت ورود به بدن بدون عوارض جانبی هضم و جذب می‌شود) روی مواد غذایی که از طریق پیچیدن، فرو بردن، برس زدن و اسپری کردن تشکیل می‌شود و به‌عنوان بخشی از محصول بوده و موقع استفاده روی محصول باقی می‌ماند (Leyva-López *et al.*, 2017). به این ترتیب یک سد انتخابی در برابر انتقال گازها، بخارها و مواد حل شده ایجاد می‌گردد و منجر به حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری مواد غذایی می‌شود (Giacometti *et al.*, 2018). همچنین پوشش های خوراکی می‌توانند با ترکیباتی مثل نرم‌کننده‌ها، امولسیفایرها، آنتی

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استاد گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: boniadian@sku.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.85460.1300

اکسیدان‌ها و مواد ضدمیکروبی ترکیب شوند تا تأثیرات مورد نظر را فراهم کنند (Sotelo-Boyás *et al.*, 2017).

کیتوزان پلی‌ساکاریدی است که در پوشش خارجی خرچنگ‌ها و میگوها و دیواره سلولی قارچها یافت می‌شود. ویژگی‌های غیر سمی، زیست تخریب‌پذیر و سازگاری آن به اثبات رسیده است. همچنین روغن‌های فرار از گیاهان استخراج می‌شوند و به‌دلیل داشتن فعالیت‌های بیولوژیکی شامل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی و ضد میکروبی شناخته شده‌اند (Ass *et al.*, 2017).

زنجبیل (*Zingiber officinale*) از خانواده Zingiberaceae به طور گسترده‌ای به‌عنوان ادویه یا گیاه دارویی در داروهای سنتی و طبی استفاده می‌شود. قسمت دارویی زنجبیل ریزوم‌ها هستند که در طب سنتی برای درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شوند. مطالعات متعدد نشان داده است که عصاره و روغن فرار این گیاه دارای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی است (Mahboubi, 2019).

ماهی به‌عنوان یک ماده غذایی غنی از اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها و مواد معدنی و اسیدهای چرب چند غیر اشباعی به‌ویژه امگا ۳ است که سبب شده بیش از پیش در سبد غذایی انسان قرار گیرد، خوشبختانه امروزه در ایران اهمیت مصرف ماهی شناخته شده و مصرف سرانه آن در حال افزایش است (Dehghani *et al.*, 2018). حضور مقدار قابل توجهی از اسیدهای چرب چند غیر اشباعی و همچنین پروتئین‌های آسان هضم، ماهی را به یک ماده غذایی بسیار فسادپذیر تبدیل کرده است (Angiolillo *et al.*, 2018). غذاهای دریایی تازه به‌دلیل فعالیت های آنزیمی و باکتریایی بالایی که بعد از مرگ رخ می‌دهد و همچنین فساد ناشی از اکسیداسیون اسیدهای چرب چند غیر اشباعی و غلظت بالای ترکیبات هماتین و یون‌های فلزی عضله ماهی مانند آهن، و pH نزدیک به خنثی خیلی سریع‌تر از بقیه‌ی انواع گوشت در معرض فساد قرار دارند (Richards & Hultin, 2020). ازآن جایی‌که اکثر محصولات غذایی دریایی در مناطقی دورتر از محل تولیدشان به فروش می‌رسند، لازم است که عمر ماندگاری این محصولات افزایش یابد (Chemat *et al.*, 2020). بهبود بخشیدن ماندگاری محصولات دریایی می‌تواند با کاهش خسارات ناشی از فساد و نیز از طریق ایجاد امکان توزیع به فواصل دورتر و فروش در بازارهای جدید و صادرات، بازتاب‌های اقتصادی مهمی در پی داشته باشد (Hassan *et al.*, 2018). بنابراین حفظ کیفیت ماهی از مرحله‌ی صید تا مصرف از اهمیت بالایی برخوردار است و صنایع مربوط به فرآوری و نگهداری محصولات دریایی می‌تواند در ارتقاء کیفیت و در نتیجه ترغیب مصرف کنندگان به استفاده از این فرآورده‌ی مهم مؤثر باشد که این عمل با استفاده از بسته‌بندی صحیح ماهی امکان‌پذیر می‌باشد.

با توجه به مخاطراتی که ممکن است در بسته‌بندی مواد غذایی با استفاده از مواد صنعتی برای مصرف‌کننده بوجود آید، تمایل مصرف کنندگان بیشتر به بسته‌بندی‌های با مواد طبیعی، در دسترس، قابل تجزیه و بازیافت شونده سوق پیدا کرده است (Pateiro *et al.*, 2021). بر این اساس استفاده از پوشش‌های طبیعی که بتواند ماندگاری مواد غذایی را افزایش داده و مورد توجه مصرف‌کنندگان قرار گیرد بیش از پیش باید مورد توجه قرار گیرد. ازآنجایی‌که ایران یکی از کشورهای تولید کننده مواد غذایی دریایی بوده و ارائه روش‌های نوین برای افزایش ماندگاری این محصولات تا موقع مصرف می‌تواند نه تنها بهداشت مصرف‌کننده را تضمین نماید بلکه در رونق اقتصادی این صنعت اثرگذار باشد. لذا مطالعه حاضر طراحی و اثر پوشش‌دهی کیتوزان به همراه روغن فرار گیاه زنجبیل بر روی ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلا در یخچال به‌منظور کاهش رشد میکروبی و کاهش واکنش‌های شیمیایی و افزایش عمر نگهداری فیله ماهی قزل‌آلا در یخچال مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه‌ی روغن فرار زنجبیل: روغن فرار زنجبیل از شرکت درین گلاب کاشان (ایران-کاشان) خریداری شد و در ظرف تیره رنگ دربدار در یخچال نگهداری شد.

تهیه محلول کیتوزان: برای تهیه تیمارهای کیتوزان، پودر کیتوزان با وزن مولکولی متوسط از شرکت سیگما (آمریکا) خریداری شد. برای ساخت پوشش ابتدا محلول استیک اسید یک درصد تهیه و سپس با افزودن پودر کیتوزان به اسید، محلول کیتوزان ۲ درصد (وزن/حجم) در اسید تهیه شد. قبل از افزودن روغن فرار زنجبیل تویین ۸۰ به‌عنوان امولسیفایر به میزان ۰/۲ درصد محلول کیتوزان اضافه شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه برای هر بشر عمل همزدن را ادامه داده تا امولسیفایر به خوبی در محلول کیتوزان پخش شود. در آخرین مرحله‌ی همزنی محلول روغن‌های فرار با نسبت ۰/۷۵ و ۱/۵ درصد (حجمی/ وزنی) به محلول‌های پایه اضافه شدند. در نهایت جهت بهبود عملکرد تداخل فازها محلول‌ها به‌مدت ۵ دقیقه تحت همزنی با دور بالای هموژنایزر قرار گرفتند. برای تهیه هر تیمار از ۵۰۰ میلی‌لیتر محلول کیتوزان ۲ درصد استفاده شد (Yuan *et al.*, 2016).

آماده‌سازی ماهی: مقدار ۴ کیلوگرم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با وزن متوسط ۶۰۰ گرم به‌صورت زنده از بازار خریداری شد و پس از تخلیه امعاء و احشاء و جدا کردن سر و دم و باله، ماهی‌ها با آب مقطر استریل شستشو و به قطعات ۶۰ گرمی تقسیم و در دمای صفر درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

ایجاد پوشش بر روی ماهی: فیله ماهی‌ها در محلول‌های پوشش‌دهی آماده شده هر تیمار غوطه‌ور و به کمک انبرک استیل به

بسته‌های زیپ‌دار مخصوص منتقل شدند. برای هر تیمار در هر روز سه تکرار در نظر گرفته شد. بسته‌های حاوی نمونه‌های ماهی در یخچال با دمای ۱±۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و در روزهای ۱، ۴، ۷، ۱۲ و ۱۵ آزمون‌های میکروبی، شیمیایی و حسی روی آن‌ها انجام شد.

آزمون‌های میکروبی

جهت ارزیابی میکروبی نمونه‌ها ابتدا ۱۰ گرم از هر یک از نمونه‌ها وزن و به داخل کیسه استومکر انتقال داده شد. سپس ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل به آن اضافه و در دستگاه استومکر کاملا هموژن شدند. سپس از رقت اولیه سریال‌های رقت ده‌تایی تهیه گردید و آزمون های شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل هوازی، باکتری‌های سرمادوست، باکتری‌های مولد اسید لاکتیک و باکتری‌های کلیفرم انجام شد. جهت شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل از محیط‌کشت PCA (مرک، آلمان) استفاده شد. یک میلی‌لیتر از هر رقت به روش پور پلیت دولایه‌ای تحت شرایط استریل به محیط‌کشت PCA منتقل شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. شمارش باکتری‌های سرمادوست نیز مطابق روش بالا انجام شد، با این تفاوت که پلیت‌ها در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ روز نگهداری شدند. برای شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک از محیط کشت MRS (مرک، آلمان) استفاده شد و مقدار یک میلی‌لیتر از هر رقت تحت شرایط استریل به پلیت منتقل و با محیط‌کشت MRS آگار به روش کشت مخلوط و دولایه کشت شد. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. جهت شمارش باکتری‌های کلیفرم نیز از روش کشت مخلوط دولایه‌ای و از محیط کشت VRBA (مرک، آلمان) استفاده شد. پلیت‌ها برای مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند (Rajabian *et al*., 2019).

آزمون‌های شیمیایی

آزمون TVN (اندازه‌گیری بازهای فرار)

مقدار ۱۰ گرم ماهی را در لوله آزمایش مخصوص کلدال ریخته و مقدار ۲ گرم اکسید منیزیوم به‌عنوان کاتالیزور به آن اضافه شد و لوله آزمایش در دستگاه اتوماتیک کلدال جای‌گذاری شد. چند قطره معرف متیل رد به‌عنوان شناساگر هم درون ارلن دریافت‌کننده دستگاه اضافه کرده و سر لوله خروجی درون ارلن قرار داده شد. محتویات درون ارلن که بازهای ازته فرار متصاعد شده از نمونه اند را با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیتر شد. سپس با قرار دادن میزان اسید مصرفی جهت تیتراسیون در فرمول زیر، بازهای ازته فرار بر حسب میلی‌گرم نیتروزن در ۱۰۰ گرم نمونه ماهی محاسبه شد (Rajabian *et al*., 2019). (A: حجم اسید سولفوریک)

$$TVN=14\times (0.15-A)$$

اندازه‌گیری pH

برای اندازه‌گیری pH مقدار ۵ گرم از نمونه ماهی با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر در یک بشر وارد و با مخلوط کن کاملا هموژن و سپس pH نمونه‌ها با استفاده از دستگاه pH متر الکتریکی اندازه‌گیری شد (Yuan *et al*., 2016).

آزمون TBARS (اکسیداسیون ثانویه چربی‌ها)

برای اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید ابتدا مقدار ۵ گرم ماهی با ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر هموژن شد و سپس یک میلی‌لیتر از محلول هموژن شده با ۲ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۱۵ درصد (وزن به حجم) تیوباربیتوریک اسید ۲۰ مولار مخلوط و هم زده شد. محلول به دست آمده به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس با دور ۳۰۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریوفوژ شد. ابتدا دستگاه اسپکتروفوتومتر بوسیله محلول کنترل شامل ۲ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۱۵ درصد و تیوباربیتوریک اسید ۲۰ مولار به اضافه ۱ میلی‌لیتر آب مقطر در طول موج ۵۳۲ نانومتر کالیبره و سپس میزان جذب نوری محلول صورتی رنگ شفاف رویی در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرآئت شد. نتایج با استفاده از فرمول زیر به صورت میلی‌گرم مالون دی آلدهید در هر کیلوگرم گوشت ماهی گزارش شد (Hernández *et al*., 2009). (A: جذب نوری)

$$\boldsymbol{TBARS} = \frac{A \times 72 \times 1000 \times 4}{1.56 \times 105}$$

آزمون‌های حسی

آزمون‌های حسی شامل رنگ، بو، بافت، مزه و پذیرش کلی گوشت ماهی بر اساس روش ۵ نمره‌ای صورت گرفت. در این ارزیابی نمره‌ی ۱: به شدت نا مطبوع، ۲: زیاد نامطبوع، ۳:کمی نامطبوع، ۴: مطبوع و ۵: بسیارمطبوع؛ در نظر قرار گرفت. ارزیاب‌ها از گروه سنی ۲۰ تا ۴۰ سال به تعداد ۵ نفر انتخاب شدند و روش پخت نمونه‌ها به روش سرخ کردن ملایم بود. در این آزمون نمونه‌هایی که نمره ۳ تا ۵ را دریافت کردند نمونه‌های قابل قبول از نظر حسی تلقی شدند (Rajabian *et al*., 2019).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

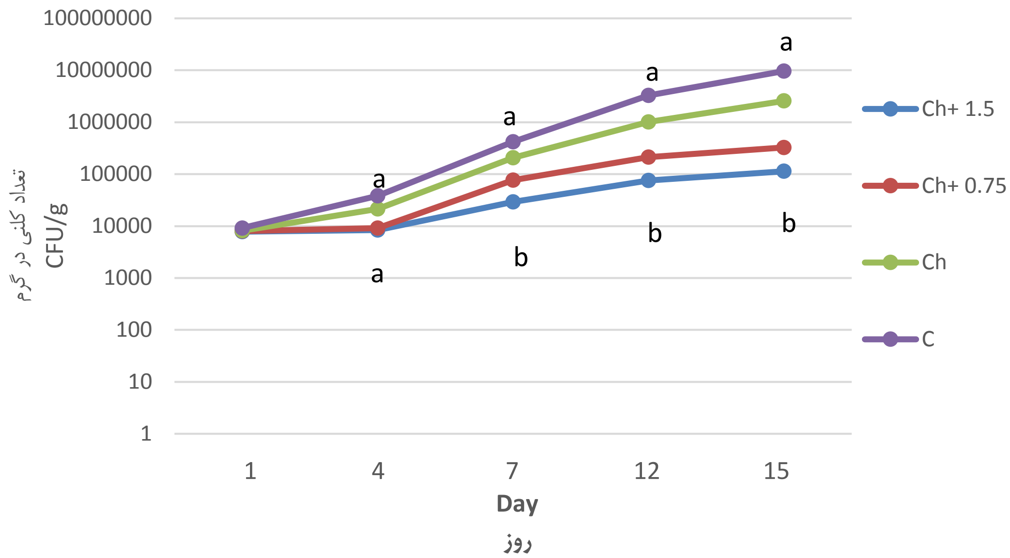
داده‌های بدست آمده از آزمون‌های میکروبی و شیمیایی توسط آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و داده‌های بدست آمده از آزمون

های حسی بوسیله آزمون کروسکال والیس، در نرم‌افزار آماری Sigma Stat 4 با در نظر گرفتن (P<0.05) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

نتایج آزمون‌های میکروبی

در بررسی رشد مزوفیل‌ها در روز اول بین گروه کنترل و سایر گروه ها (تیمار کیتوزان ۲ درصد، کیتوزان به همراه اسانس ۰/۷۵و ۱/۵ درصد روغن فرار زنجبیل) تفاوت معنی‌داری در شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی مشاهده نشد (P>0.05). ولی در طول زمان نگهداری تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی هم در گروه کنترل و هم در تیمارها افزایش پیدا کرد. اما روند این افزایش در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل کندتر بود. در پایان دوره‌ی نگهداری (روز ۱۵) رشد مزوفیل‌ها در گروه کنترل از همه گروه‌های دیگر بیشتر بود. در این زمان گروه تیمار کیتوزان با روغن فرار ۱/۵ درصد و ۰/۷۵ روغن فرار زنجبیل بهترین کیفیت میکروبی از نظر شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی را داشتند و تفاوت معنی‌دار نیز بین این دو گروه از این نظر مشاهده نشد (P>0.05)، ولی بین گروه‌های کنترل و تیمار کیتوزان ۲ درصد با گروه های تیمار کیتوزان حاوی روغن فرار ۰/۷۵ و ۱/۵ درصد تفاوت معنی داری وجود داشت (P<0.05) (شکل ۱).



شکل ۱- تعداد باکتری‌های مزوفیل در تیمارهای مختلف در ماهی قزل‌آلا طی ۱۵ روز نگهداری در شرایط یخچال

(C: ماهی قزل آلای فاقد پوشش، Ch: ماهی قزل آلای دارای پوشش کیتوزان ۲ درصد، Ch0.75: ماهی قزل آلای دارای پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل با غلظت ۰/۷۵ درصد، Ch1.5: ماهی قزل آلای دارای پوشش کیتوزان به علاوه روغن فرار با غلظت ۱/۵ درصد). حروف غیر مشابه در تیمارها در هر روز نشانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار است (P<0.05).

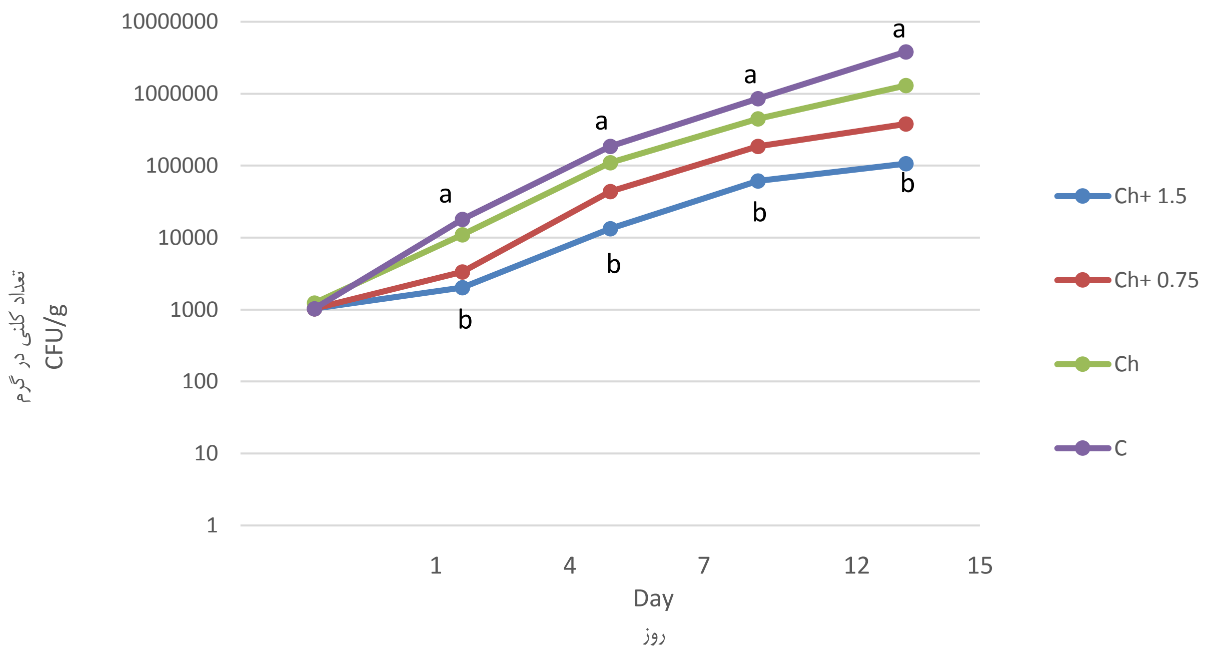
Fig. 1. The number of mesophilic bacteria in different treatments in salmon during 15 days of storage in refrigerator conditions

(C: uncoated salmon, Ch: salmon coated with 2% chitosan, Ch0.75: salmon with chitosan coating containing ginger essential oil with a concentration of 0.75%, Ch1.5: salmon with chitosan coating plus essential oil with a concentration of 1.5%. Different letters in the treatments on each day indicate the presence of statistically significant differences P<0.05).

نتایج شمارش باکتری‌های سایکروفیل در روز اول نگهداری تا روز چهارم تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و دیگر گروه‌ها (تیمار کیتوزان ۲ درصد و تیمار کیتوزان به علاوه‌ی روغن فرار با غلظت ۰/۷۵ درصد و تیمار کیتوزان حاوی روغن فرار با غلظت ۱/۵ درصد) مشاهده نشد (P>0.05). در روز پانزدهم نگهداری نیز همچنان با توجه به این که تمامی گروه‌ها از نظر باکتری‌های سایکروفیل رشد داشتند، ولی رشد در گروه کنترل از سایر گروه‌ها بیشتر بود بطوری‌که بین گروه کنترل و تیمار کیتوزان ۲ درصد با گروه‌های تیمار با کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل با غلظت ۰/۷۵ و ۱/۵ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (P<0.05). ولی بین گروه تیمار کیتوزان با روغن فرار ۰/۷۵ درصد با گروه تیمار کیتوزان با روغن فرار با غلظت ۱/۵ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>0.05) (شکل ۲).

با توجه به نتایج شمارش باکتری‌های کلیفرم در همه گروه‌ها طی زمان نگهداری کلیفرم‌ها رشد داشتند. در روز اول بین گروه کنترل با تمامی گروه‌های تیمار اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($P>0.05$)، ولی در روزهای بعد رشد باکتری‌های کلیفرم در گروه کنترل نسبت به سایر گروه‌ها افزایش بیشتری داشت بطوری‌که از روز هفتم به بعد بین گروه کنترل با تمامی گروه‌های تیمار اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P<0.05$)، اما بین گروه تیمار کیتوزان حاوی روغن زنجبیل ۰/۷۵ درصد وگروه تیمار کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل ۱/۵ درصد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>0.05$) (شکل ۳).

بررسی اثر تیمار کیتوزان و روغن فرار زنجبیل با غلظت‌های ۰/۷۵ و ۱/۵ درصد غلظت روغن فرار زنجبیل بر روی باکتری‌های اسید لاکتیک در گوشت ماهی در شکل ۴ آورده شده است. بر این اساس در روز اول نگهداری بین گروه کنترل با تمامی گروه‌ها اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($P>0.05$). در روز چهارم و هفتم و دوازدهم نگهداری نیز با توجه به رشد باکتری‌های اسید لاکتیک در همه‌ی گروه‌ها روند ادامه می‌یابد اما در گروه کنترل با سرعت بیشتری همراه است و در روز پانزده بین گروه کنترل با تمامی تیمارها به جز تیمار کیتوزان ۲ درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P<0.05$) اما بین گروه تیمار کیتوزان حاوی روغن فرار ۱/۵ درصد با گروه کیتوزان حاوی روغن فرار ۰/۷۵ درصد اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($P>0.05$) (شکل ۴).

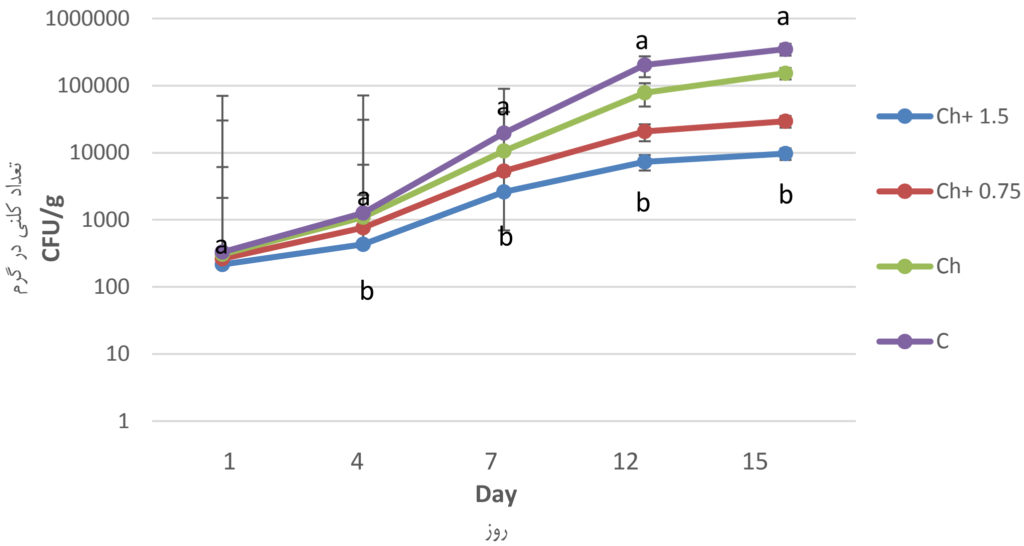


شکل ۲- تعداد باکتری‌های سرمادوست در تیمارهای مختلف در ماهی قزل‌آلا طی ۱۵ روز نگهداری در شرایط یخچال

(C: ماهی قزل‌آلای فاقد پوشش، Ch: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان ۲ درصد، Ch0.75: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل با غلظت ۰/۷۵ درصد، Ch1.5: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان به علاوه‌ی روغن فرار با غلظت ۱/۵ درصد). حروف غیر مشابه در تیمارها در هر روز نشانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار است ($P<0.05$).

Fig. 2. The number of Psychrophilic bacteria in different treatments in salmon during 15 days of storage in refrigerator conditions

(C: uncoated salmon, Ch: salmon coated with 2% chitosan, Ch0.75: salmon coated with chitosan containing Ginger essential oil with a concentration of 0.75%, Ch1.5: chitosan coated salmon plus essential oil with a concentration of 1.5%. Different letters in the treatments on each day indicate the presence of statistically significant differences P<0.05).

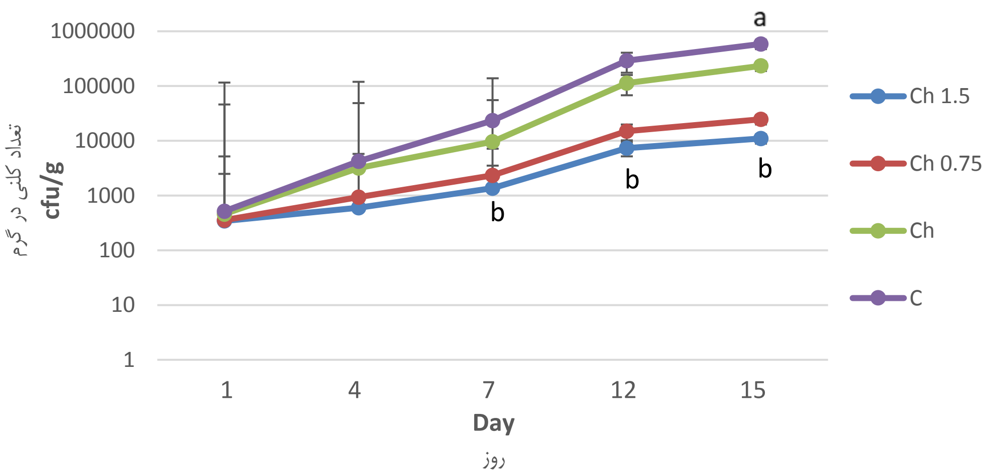


شکل ۳- تعداد باکتری‌های کلیفرم در تیمارهای مختلف در ماهی قزل‌آلا طی ۱۵ روز نگهداری در شرایط یخچال

(C: ماهی قزل‌آلای فاقد پوشش، Ch: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان ۲ درصد، Ch0.75: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل با غلظت ۰/۷۵ درصد، Ch1.5: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان به علاوه‌ی روغن فرار با غلظت ۱/۵ درصد). حروف غیر مشابه در تیمارها در هر روز نشانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار است (P<0.05).

Fig. 3. The number of coliform bacteria in different treatments in salmon during 15 days of storage in refrigerator conditions

(C: uncoated salmon, Ch: salmon coated with 2% chitosan, Ch0.75: coated salmon Chitosan containing ginger essential oil with a concentration of 0.75%, Ch1.5: salmon coated with chitosan plus essential oil with a concentration of 1.5%. Different letters in the treatments on each day indicate the presence of statistically significant differences P<0.05).



شکل ٤- تعداد باکتری‌های مولد اسید لاکتیک در تیمارهای مختلف در ماهی قزل‌آلا طی ۱۵ روز نگهداری در شرایط یخچال

(C: ماهی قزل‌آلای فاقد پوشش، Ch: ماهی لای دارای پوشش کیتوزان ۲ درصد، Ch0.75: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل با غلظت ۰/۷۵ درصد، Ch1.5: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان به علاوه‌ی روغن فرار با غلظت ۱/۵ درصد). حروف غیر مشابه در تیمارها در هر روز نشانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار است (P<0.05).

Fig. 4. The number of lactic acid bacteria in different treatments in salmon during 15 days of storage in refrigerator conditions

(C: uncoated salmon, Ch: salmon coated with 2% chitosan, Ch0.75: coated salmon Chitosan containing ginger essential oil with a concentration of 0.75%, Ch1.5: salmon coated with chitosan plus essential oil with a concentration of 1.5%. Different letters in the treatments on each day indicate the existence of a statistically significant difference P<0.05).

همانطور که نتایج آزمون‌های میکروبی نشان می‌دهد باکتری‌های مزوفیل هوازی و سرمادوست و باکتری‌های کلی‌فرم و اسید لاکتیک در طول دوره آزمایش در همه گروه‌ها افزایش یافتند که این افزایش در گروه‌های کنترل و تیمار کیتوزان به‌طور معنی‌داری بیشتر از بقیه‌ی گروه ها بود و همواره گروه تیمار حاوی پوشش کیتوزان به همراه روغن فرار زنجبیل با غلظت ۱/۵ درصد از نظر شمارش باکتری‌های مزوفیل، سایکروفیل، کلی‌فرم و اسید لاکتیک دارای شمارش کمتری نسبت به سایر تیمارها بود. ولی در اکثر مواقع این اختلاف آماری با گروه تیمار کیتوزان با روغن فرار زنجبیل با غلظت ۰/۷۵ درصد معنی‌دار نبود. این نتایج نشان می‌دهد که پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل با غلظت‌های ۰/۷۵ و ۱/۵ درصد هر دو تقریبا به یک اندازه در بازدارندگی رشد میکروبی مؤثر بوده‌اند. توانایی ضد باکتریایی کیتوزان را به وجود بارهای مثبت مولکول آن نسبت داده‌اند که در نتیجه برهم‌کنش با غشای سلول باکتریایی (که دارای بار منفی است) موجب خروج اجزا و ترکیبات ضروری سلول باکتری و در نهایت موجب مرگ آن می‌شود. همچنین کمتر بودن بار میکروبی کلی در تیمارهای حاوی اسانس و عصاره می‌تواند ناشی از ترکیبات فنولی موجود در آن نظیر -β zingiberene و β-sesquiphellandrene، وα-curacumene در زنجبیل باشد. ترکیبات فنولی موجود در روغن فرار زنجبیل غشای خارجی میکروارگانیسم‌ها را تخریب کرده و سبب خروج لیپوساکاریدها و افزایش نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی به ATP می‌شود و خروج ATP منجر به تمام شدن ذخیره‌ی انرژی سلول می‌شود (Cai *et al.*, 2014). در تأیید این نتایج جیاتراکوئو و همکاران (Giatrakou *et al.*, 2010)، پتروئو و همکاران (Petrou *et al.*, 2012)، اجاق و همکاران (Ojagh *et al.*, 2011) تأثیر کیتوزان به تنهایی و یا به همراه عصاره های گیاهی را در کاهش بار میکروبی مواد غذایی گزارش کردند. همچنین در ارتباط با تولید پوشش‌های خوراکی حسن‌زاده و همکاران (Hassanzadeh *et al.*, 2011) پوشش کیتوزان حاوی عصاره انگور را تولید و اثر آن بر کیفیت و ماندگاری گوشت مرغ در دمای یخچالی را بررسی نمودند، نتایج حاصل نشان داد که پوشش‌دهی باعث کاهش معنی‌دار شمارش باکتری‌های مزوفیل و سرمادوست و افزایش عمر نگهداری مرغ به حداقل ۷ روز در دمای یخچال می‌شود. نوری و همکاران (Noori *et al.*, 2017) نیز گزارش کردند نانوامولسیون پوشش بر پایه سدیم کازئینات حاوی روغن فرار زنجبیل می‌تواند عمر نگهداری فیله‌ی مرغ را افزایش دهد. فرجامی و همکاران (Farjami *et al.*, 2013) اثر ضد میکروبی روغن فرار گیاهان آویشن دنایی و مرزه کوهی روی *لیستریا مونوسیتوژنز* در گوشت سفید و قرمز را نشان دادند. جروگانتلیس و همکاران (Georgantelis *et al.*, 2007) با مطالعه اثر کیتوزان و اسانس رزماری و همچنین α-توکوفرول روی شاخص‌های میکروبی و اکسیداسیون چربی در سوسیس تازه، علاوه بر اثبات خواص ضدمیکروبی کیتوزان و رزماری هر یک به تنهایی، به اثر هم‌افزایی این دو با هم اشاره کردند.

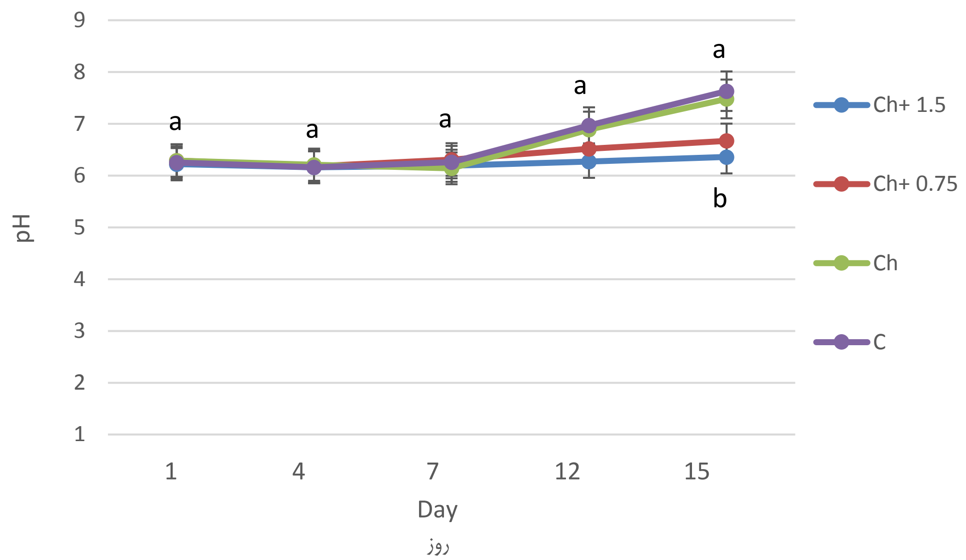
مطالعات نشان داده‌اند که کیتوزان در حالت محلول پوشش مؤثرتری است. بدین صورت که وقتی کیتوزان از اجزای یک محلول پوششی باشد برای فعالیت به‌عنوان یک نگهدارنده می‌تواند آزادانه‌تر عمل کند. فضل آرا و همکاران (Fazlara *et al.*, 2017) به بررسی پوشش خوراکی کیتوزان-رزماری بر کیفیت و ماندگاری فیله تازه ماکیان در دمای یخچال پرداختند و به این نتیجه رسیدند که پوشش دهی اثر معنی‌داری بر کاهش شمارش باکتری‌های مزوفیل و سایکروفیل با حداقل ۱۵ روز نگهداری را داشته است. همچنین نمونه های غوطه‌ور شده در کیتوزان حاوی روغن فرار رزماری میزان TVN و pH کمتری از دو گروه دیگر در طول نگهداری نشان دادند و از نظر فاکتور حسی نیز نسبت به دو گروه دیگر باعث حفظ فاکتورهای حسی در سطح قابل قبول به‌مدت ۱۵ روز گردید.

نتایج آزمون‌های شیمیایی

نتایج خصوصیات شیمیایی ماهی قزل‌آلای مورد آزمون در شکل ۵ تا ۷ آورده شده است. بر اساس داده‌ها در روز اول بین مقادیر pH در گروه‌های مختلف با یکدیگر اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت (P<0.05)، اما به تدریج مقدار pH در همه گروه‌ها تا روز ۷ کمی کاهش پیدا کرد ولی از روز ۷ به بعد مقدار pH در همه گروه‌ها افزایش یافت. با این وجود در روز پانزدهم نگهداری بین گروه کنترل و تیمار کیتوزان ۲ درصد با گروه‌های تیمار کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل با غلظت‌های مختلف اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<0.05) (شکل ۵).

pH گوشت ماهی می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند گونه، ناحیه صید، تغذیه ماهی، دما و شرایط نگهداری قرار گیرد. در مطالعه حاضر مقدار pH در همه تیمارها تا روز ۷ به میزان جزیی کاهش نشان داد این کاهش اولیه pH به‌دلیل تجزیه گلیکوژن موجود در عضلات در شرایط بی‌هوازی و تولید اسید لاکتیک است که باعث افزایش اسیدیته در عضلات ماهی می‌شود (Manju *et al.*, 2007). ولی از روز ۷ به بعد در گروه کنترل و کیتوزان افزایش pH اتفاق افتاد و تا پایان دوره نگهداری (روز ۱۵) روند افزایشی داشت که با مشاهدات منجو و همکاران (Manju *et al.*, 2007) و فان و همکاران (Fan *et al.*, 2009) مشابه بود. دلیل این افزایش نیز تجزیه پروتئین‌ها ناشی از فعالیت باکتری‌ها و تولید ترکیبات قلیایی مانند آمونیاک و تری‌متیل

آمین است. در تأیید این نتایج شادمان و همکاران (Shadman *et al.*, 2017) علت اصلی افزایش pH در گوشت ماهی در دمای یخچال را تولید ترکیبات قلیایی مثل آمونیاک و تری‌متیل آمین که ناشی از شکسته شدن پروتئین‌های گوشت توسط میکروارگانیسم‌ها، پروتئین های میکروبی و نیز فعالیت آنزیم‌های میکروبی و آندروژنی می‌باشد گزارش کردند.



شکل ۵- مقادیر pH در تیمارهای مختلف در ماهی قزل‌آلا طی ۱۵ روز نگهداری در شرایط یخچال

C: ماهی قزل آلای فاقد پوشش، Ch: ماهی قزل آلای دارای پوشش کیتوزان ۲ درصد، Ch0.75: ماهی قزل آلای دارای پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل با غلظت ۰/۷۵ درصد،Ch1.5: ماهی قزل آلای دارای پوشش کیتوزان به علاوه ی روغن فرار با غلظت ۱/۵درصد. حروف غیر مشابه در تیمارها در هر روز نشانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار است ($P<0.05$).

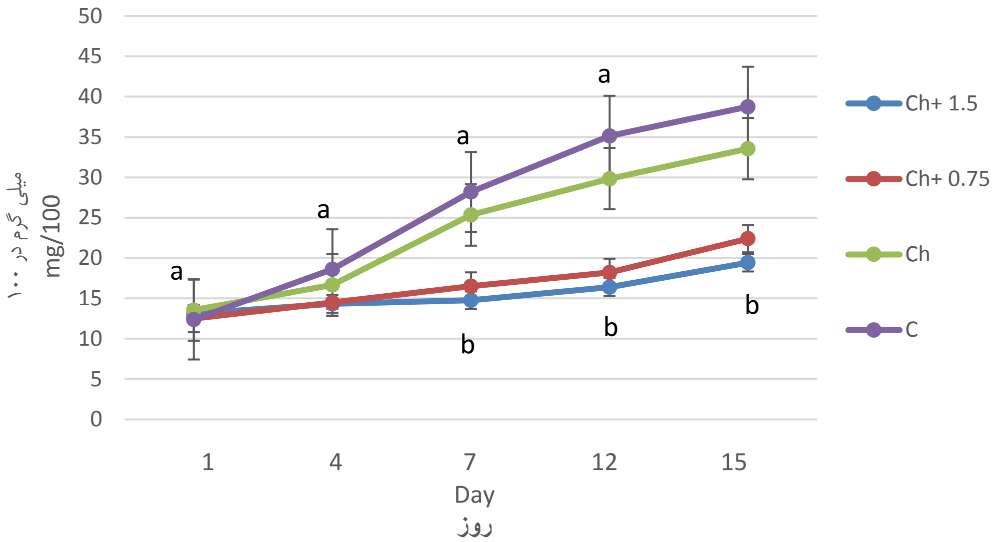
Fig. 5. pH values in different treatments in salmon during 15 days storage in refrigerator conditions

C: uncoated salmon, Ch: 2% chitosan coated salmon, Ch0.75: chitosan coated salmon containing ginger essential oil with a concentration of 0.75%, Ch1.5: Salmon coated with chitosan plus essential oil with a concentration of 1.5%. Different letters in the treatments on each day indicate the presence of statistically significant differences (P<0.05).

تغییرات TVN در گروه‌های مختلف آورده شده است، همانگونه که مشخص است طی زمان نگهداری نمونه‌ها در یخچال مقدار TVN تقریبا در تمامی گروه‌ها افزایش داشته است ولی در تیمارهای حاوی روغن فرار زنجبیل روند این افزایش بسیار کندتر بود. بطوری‌که در روز پانزدهم نگهداری مقدار بازهای فرار در گروه کنترل و تیمار کیتوزان ۲ درصد از حد مجاز (25mg/100) افزایش پیدا کرد ولی در گروه‌های تیمار حاوی روغن‌های فرار زنجبیل مقادیر بازهای فرار از حداکثر مقدار مجاز افزایش نیافت. آزمون آماری نیز بین مقادیر TVN در گروه‌های کنترل و تیمار کیتوزان ۲ درصد با گروه‌های تیمار شده با روغن فرار زنجبیل اختلاف آماری معنی‌داری را نشان داد ($P<0.05$) (شکل ۶).

مجموع بازهای نیتروژنی فرار یک اصطلاح عمومی است که شامل تری‌متیل آمین، دی‌متیل آمین، آمونیاک و دیگر ترکیبات بازی نیتروژنی که با فساد غذاهای دریایی همراه است. در این مطالعه تغییرات TVN طی نگهداری فیله‌های ماهی قزل آلا روندی افزایشی داشت، به‌طوری که میزان افزایش TVN در گروه کنترل افزایش زیادی داشت و در روز ۷ از حد استاندارد تعیین شده (۲۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) بیشتر شد، اما در گروه‌های تیمار با روند افزایش کندتری همراه بود. ایجاد TVN در ماده غذایی سبب ایجاد بوی نامطبوع می‌گردد. بنابراین افزایش TVN با کاهش میزان قابلیت پذیرش ماهی توسط مصرف‌کننده همراه می باشد (Yuan *et al.*, 2016). در گروه تیمار با کیتوزان ۲ درصد مقدار TVN از روز ۱۲ نگهداری، از حد استاندارد تعیین شده بیشتر شد، ولی در گروه‌های تیمار کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل مقدار TVN در روز ۱۵ نگهداری نیز از حد مجاز بیشتر نشد. این نتایج نشان‌دهنده مؤثر بودن تیمار کیتوزان حاوی روغن فرار گیاه زنجبیل در کاهش رشد میکروبی و جلوگیری از فساد می‌باشد. ذوالفقاری و همکاران (Zolfaghari *et al.*, 2011) روند تغییرات شیمیایی و میکروبی و حسی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان را جهت تعیین مدت زمان ماندگاری آن طی نگهداری در دمای یخچال را بررسی کردند. بدین منظور فیله های ماهی قزل‌آلا به‌مدت ۱۸ روز در یخچال نگهداری و تغییرات شاخص‌های اسید چرب آزاد (FFA) و شاخص تیوباربیتوریک اسید

(TBA) و مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVBN) و TVC و بار میکروبی کل و ارزیابی حسی صورت پذیرفت با توجه به استانداردهای این آزمون‌ها و همچنین ارزیابی حسی نمونه‌ها در روز ۵ از حدود استاندارد خارج شدند.



شکل ٦- مقادیر TVN در تیمارهای مختلف در ماهی قزل‌آلا طی ۱۵ روز نگهداری در شرایط یخچال

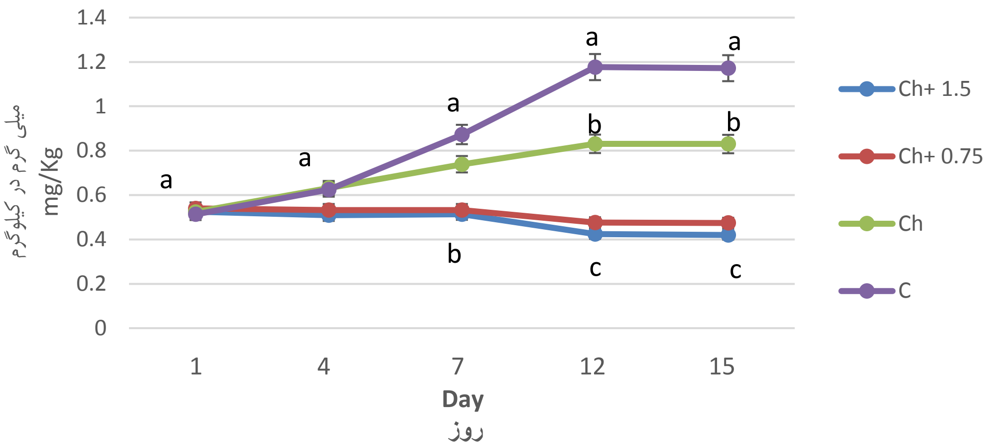
C: ماهی قزل‌آلای فاقد پوشش، Ch: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان ۲ درصد، Ch0.75: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل با غلظت ۰/۷۵ درصد، Ch1.5: ماهی قزل آلای دارای پوشش کیتوزان به علاوه‌ی روغن فرار با غلظت ۱/۵ درصد). حروف غیر مشابه در تیمارها در هر روز نشانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار است ($P<0.05$).

Fig. 6. TVN values in different treatments in salmon during 15 days of storage in refrigerator conditions

C: uncoated salmon, Ch: salmon coated with 2% chitosan, Ch0.75: salmon coated with chitosan containing oil Ginger essential with a concentration of 0.75%, Ch1.5: salmon coated with chitosan plus essential oil with a concentration of 1.5%. Different letters in the treatments on each day indicate the presence of statistically significant differences (P<0.05).

یوئان و همکاران (Yuan *et al.*, 2016) در چین به بررسی فیلم ها و پوشش‌های کیتوزان حاوی روغن‌های فرار و کاربردشان در سیستم های غذایی پرداختند و به این نتیجه رسیدند که فیلم‌ها و پوشش‌های کیتوزان حاوی روغن‌های فرار گیاهان معمولا منجر به افزایش ماندگاری و کاهش پراکسیداسیون چربی ماهی و فرآورده‌های گوشتی می‌شوند. همچنین شادمان و همکاران (Shadman *et al.*, 2017) نیز اثر نانو امولسیون بر پایه روغن آفتابگردان حاوی روغن فرار آویشن شیرازی بر خصوصیات فیزیکو شیمیایی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طی نگهداری در سرما را نشان دادند. در این تحقیق میزان TBA، FFA، TVBN اندازه‌گیری شده حاکی از کاهش اکسیداسیون لیپیدی و افزایش عمر ماهی قزل‌آلا به حداقل ۱۵ روز بود. در مطالعه آتارس و همکاران (Atares *et al.*, 2010) در فرآیند تولید فیلم از کازئینات سدیم و دو اسانس دارچین و زنجبیل به این نتیجه رسیدند که استفاده از اسانس روغنی دارچین و زنجبیل باعث کاهش نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب شد و به‌طور چشمگیری مانع اکسیداسیون روغن آفتابگردان شد. کاهش میزان TVN توسط کیتوزان با رزماری توسط محققان دیگر از جمله امیزا و همکاران (Amiza *et al.*, 2013)، جیمنز و همکاران (Gimenez *et al.*, 2002) نیز گزارش شده است.

بر اساس نتایج بین مقدار TBARS در روز اول تا چهارم نگهداری در گروه‌های تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P>0.05$) ولی از روز چهارم بین گروه کنترل با گروه‌های تیمار به جز گروه تیمار با کیتوزان ۲ درصد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P<0.05$). در روز ۱۵ مقدار TBARS در گروه کنترل از حد مجاز تعیین شده در گوشت ماهی (1mg/kg) افزایش پیدا کرد ولی در تیمار کیتوزان و دو گروه تیمار حاوی روغن فرار زنجبیل این شاخص کمتر از حد مجاز تعیین شده بود (شکل ۷).



شکل ۷- مقادیر TBARs در تیمارهای مختلف در ماهی قزل‌آلا طی ۱۵ روز نگهداری در شرایط یخچال

C: ماهی قزل آلای فاقد پوشش، Ch: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان ۲ درصد، Ch0.75: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل با غلظت ۰/۷۵ درصد، Ch1.5: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان به علاوه‌ی روغن فرار با غلظت ۱/۵ درصد). حروف غیر مشابه در تیمارها در هر روز نشانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار است ($P<0.05$).

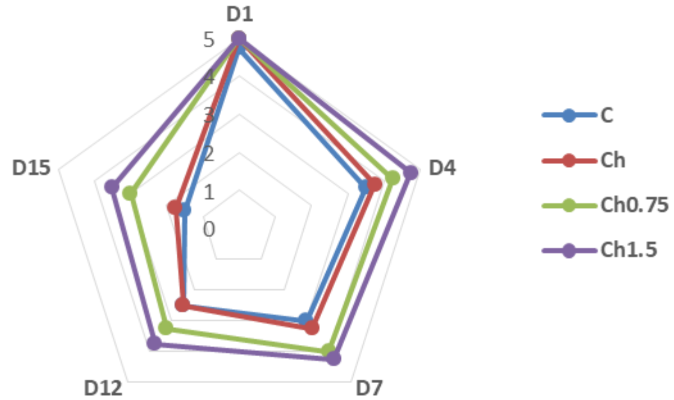
Fig. 7. TBARs values in different treatments in salmon during 15 days storage in refrigerator conditions

C: uncoated salmon, Ch: salmon coated with 2% chitosan, Ch0.75: salmon coated with chitosan containing Ginger essential oil with a concentration of 0.75%, Ch1.5: chitosan coated salmon plus essential oil with a concentration of 1.5%. Different letters in the treatments on each day indicate the presence of statistically significant differences (P<0.05).

شاخصی که به‌طور گسترده جهت اندازه‌گیری مقدار فساد اکسیداسیون چربی‌ها استفاده می‌شود، مقدار تیوباربیتوریک اسید (TBA) در مواد غذایی است . نتایج مطالعه حاضر نشان داد که طی زمان نگهداری فیله قزل‌آلا مقدار TBA تا حدود ۱،۱۷ میلی‌گرم مالون آلدهید در کیلوگرم در روز ۱۲ در گروه کنترل افزایش یافت ولی در گروه‌های تیمار با کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل افزایش جزیی داشت. این نتایج بیانگر این است که در هر دو تیمار با غلظت‌های روغن فرار زنجبیل از اکسیداسیون چربی جلوگیری شده است. اکسیداسیون چربی‌ها در گوشت ماهی بیشتر در اثر اکسید شدن اسیدهای چرب غیر اشباع و ایجاد ترکیباتی مانند مالون آلدهید بوده که منجر به طعم و بوی نامطلوب در ماهی می‌شود (Ramanathan & Das, 1992). مقدار مجاز این ترکیب با قطعیت بیان نشده است اما مقادیر بیشتر از ۱ میلی گرم در کیلوگرم نشانگر اکسیداسیون زیاد چربی است (Goulas (Kontominas, 2007). در مطالعه حاضر در حدود روز هفتم در گروه کنترل مقدار این شاخص به این محدوده رسید. به‌دلیل کاهش شاخص TBA و تجزیه ی مالون آلدهید پس از رسیدن به این نقطه قضاوت فساد ماهی بر اساس این شاخص مشکل می‌باشد. در تأیید این نتایج پترئو و همکاران (Petrou *et al*., 2012)، مکانیسم عمل کیتوزان را برای کاهش اکسیداسیون چربی در غذاهای گوشتی، نقش آن به‌عنوان یک عامل حذف کننده یون‌های فلزی مثل یون‌های آهن که مسئول شروع پراکسیداسیون لیپیدها و آغاز واکنش‌های زنجیره‌ای هستند و منجر به بد شدن طعم و بوی مواد غذایی می‌شوند بیان کردند.

نتایج آزمون‌های حسی

برای سنجش ویژگی‌های حسی نمونه‌ها نمره از مدل ۵ نمره‌ای استفاده شد، که نمره ۵ بهترین نمره و نمره ۱ بدترین نمره از نظر شاخص بو، رنگ، بافت طعم و مزه بودند. نمرات قابل قبول نمرات ۳ تا ۵ در نظر گرفته شد. در روز اول آزمایش شاخص بو در ماهی قزل‌آلا همه گروه‌های تیمار نمره بالا (بالاتر از ۴) و قابل قبولی را کسب کردند و تفاوت معناداری مشاهده نگردید ولی با گذشت زمان روندی کاهشی در شاخص بو ایجاد شد. تا روز ۷ همه‌ی گروه‌های تیمار نمره‌ی بالای ۳ گرفتند و قابل قبول بودند. در روز ۱۲ و ۱۵ گروه کنترل و گروه تیمار کیتوزان ۲ درصد نمره قابل قبولی را دریافت نکردند و قابل پذیرش نبودند (کمتر از ۳) ولی دو گروه تیمار کیتوزان به همراه روغن فرار با غلظت ۰/۷۵ وتیمار کیتوزان به همراه روغن فرار با غلظت ۱/۵ درصد از نظر شاخص بو نمره بالای ۳ را دریافت کردند و بوی قابل قبول داشتند ($P<0.05$) (شکل ۸).

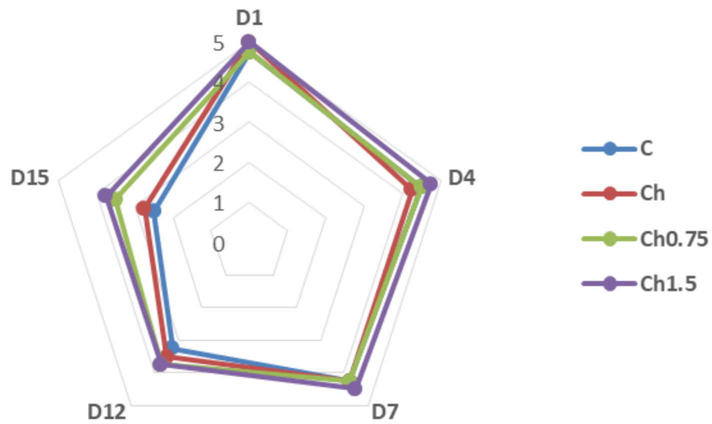


شکل ۸- تغییرات بو در تیمارهای مختلف در ماهی قزل‌آلا طی ۱۵ روز نگهداری در شرایط یخچال

C: ماهی قزل‌آلای فاقد پوشش، Ch: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان ۲ درصد، Ch0.75: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل با غلظت ۰/۷۵ درصد، Ch1.5: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان به علاوه‌ی روغن فرار با غلظت ۱/۵ درصد

Fig. 8. Odor changes in different treatments in salmon during 15 days of storage in refrigerator conditions

C: uncoated salmon, Ch: salmon coated with 2% chitosan, Ch0.75: salmon coated with chitosan containing Ginger essential oil with a concentration of 0.75%, Ch1.5: Salmon coated with chitosan plus essential oil with a concentration of 1.5%



شکل ۹- تغییرات رنگ در تیمارهای مختلف در ماهی قزل‌آلا طی ۱۵ روز نگهداری در شرایط یخچال

C: ماهی قزل‌آلای فاقد پوشش، Ch: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان ۲ درصد، Ch0.75: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل با غلظت ۰/۷۵ درصد، Ch1.5: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان به علاوه‌ی روغن فرار با غلظت ۱/۵ درصد

Fig. 9. Color changes in different treatments in salmon during 15 days of storage in refrigerator conditions

C: uncoated salmon, Ch: salmon coated with 2% chitosan, Ch0.75: salmon coated with chitosan containing Ginger essential oil with a concentration of 0.75%, Ch1.5: Salmon coated with chitosan plus essential oil with a concentration of 1.5%

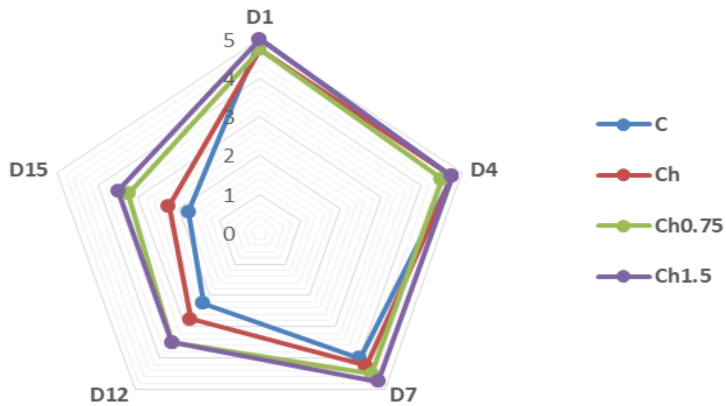
شاخص رنگ ماهی قزل‌آلا در روز اول نمره دریافت شده همه گروه های تیمار نمره بالا (بالاتر از ۴) و قابل قبول بود. با گذشت زمان این نمرات این شاخص روند کاهشی را در همه گروه‌ها نشان داد ولی تا روز ۱۲ همچنان تمامی گروه‌های تیمار نمره‌ی بالاتر از۳ را دریافت کردند و قابل قبول بودند. در روز ۱۵ گروه‌های کنترل و تیمار کیتوزان ۲ درصد نمره‌های زیر ۳ را دریافت کردند ولی گروه‌های تیمار کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل نمره‌ی بالای ۳ را دریافت کردند و دارای رنگ قابل قبول بودند ($P<0.05$) (شکل ۹).

در بررسی شاخص بافت ماهی قزل‌آلا در روز اول آزمایش همه گروه‌های تیمار نمره قابل قبول و بالایی را دریافت کردند و همگی بالاتر از ۴ بودند. با گذشت زمان نمرات این شاخص روند کاهشی در همه گروه‌ها داشت ولی با این حال تا روز ۷ تمامی گروه‌های تیمار نمره قابل قبول دریافت کردند. در روزهای ۱۲ و ۱۵ دو گروه کنترل و تیمار کیتوزان ۲ درصد دارای نمره زیر ۳ بود ولی گروه‌های تیمار کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل نمره بالای ۳ را کسب کرده و بافت قابل قبول داشتند ($P<0.05$) (شکل ۱۰).

طعم و مزه در ماهی قزل آلا با توجه به شکل ۱۱ در روز اول آزمایش همه گروه‌ها نمره‌ی قابل قبول و بالایی گرفتند (بالاتر از ۴) ولی با گذشت زمان روند نمرات این شاخص در تمامی گروه‌ها کاهشی بود و تا روز ۷ تمامی گروه‌های تیمار نمره بالای ۳ را دریافت کردند. در روزهای ۱۲ و ۱۵ گروه‌های کنترل و تیمار کیتوزان ۲ درصد نمره زیر ۳ را دریافت کردند ولی تیمارهای کیتوزان به همراه روغن فرار با غلظت ۰/۷۵ و ۱ /۵ درصد نمره بالای ۳ را دریافت کردند و طعم و مزه قابل قبول داشتند ($P<0.05$) (شکل ۱۱).

با توجه به شکل ۱۲ در شروع آزمایشات در همه گروه‌های تیمار از لحاظ پذیرش کلی تفاوت معناداری وجود ندارد. در بین تیمارها گروه های کیتوزان به همراه غلظت‌های ۰/۷۵ و ۱/۵ درصد روغن فرار زنجبیل دارای بیشترین پذیرش کلی بودند. در گروه کنترل در روز ۷ نمونه‌ها از لحاظ پذیرش کلی قابل قبول نبوده و همچنین گروه کیتوزان در روز ۱۲ پذیرش کلی خود را از دست داده بود. لازم به ذکر است که دو گروه کیتوزان با غلظت‌های ۰/۷۵ و ۱/۵ درصد روغن فرار زنجبیل تا انتهای دوره امتیاز قابل قبولی کسب کردند ($P<0.05$) (شکل ۱۲).

شاخص‌های حسی رنگ، بافت، عطر و بو و طعم و مزه در تمامی گروه‌های تیمار تا روز ۴ آزمایش نمره بالا ۳ را دریافت کردند و از نظر کلی مورد قبول بودند. اما پس از آن فقط دو گروه تیمار کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل تا روز ۱۵ آزمون در تمامی موارد امتیاز بالای ۳ و مورد قبول را کسب کردند. در تایید این نتایج ذوالفقاری و همکاران (Zolfaghari *et al*., 2010) به بررسی تأثیر عصاره‌های آویشن شیرازی، پیاز و کاکوتی کوهی بر زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرداختند و متوجه شدند که عصاره آویشن شیرازی کارایی زیادی در ماندگاری، رنگ، بو و بافت و قابلیت پذیرش کلی فیله ماهی داشت. همچنین فضل آرا و همکاران (Fazlara *et al*., 2017) تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان-رزماری بر روی کیفیت و ماندگاری فیله تازه ماکیان در دمای یخچال را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که این تیمار باعث حفظ فاکتورهای حسی در سطح قابل قبول به‌مدت ۱۵ روز شد.

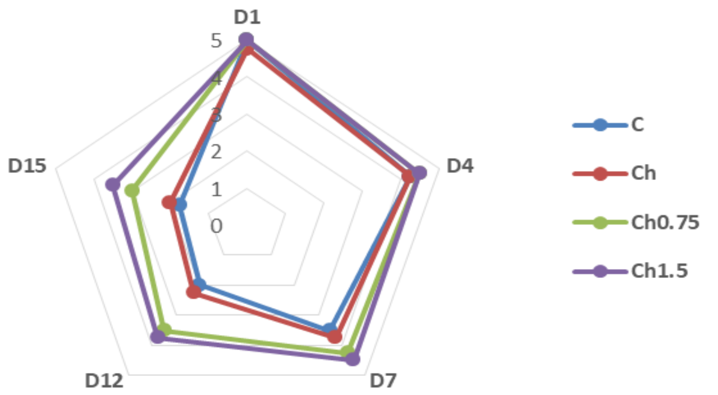


شکل ۱۰- تغییرات بافت در تیمارهای مختلف در ماهی قزل‌آلا طی ۱۵ روز نگهداری در شرایط یخچال

(C: ماهی قزل‌آلای فاقد پوشش، Ch: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان ۲ درصد، Ch0.75: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل با غلظت ۰/۷۵ درصد، Ch1.5: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان به علاوه‌ی روغن فرار با غلظت ۱/۵ درصد)

Fig. 10. Tissue changes in different treatments in salmon during 15 days of storage in refrigerator conditions

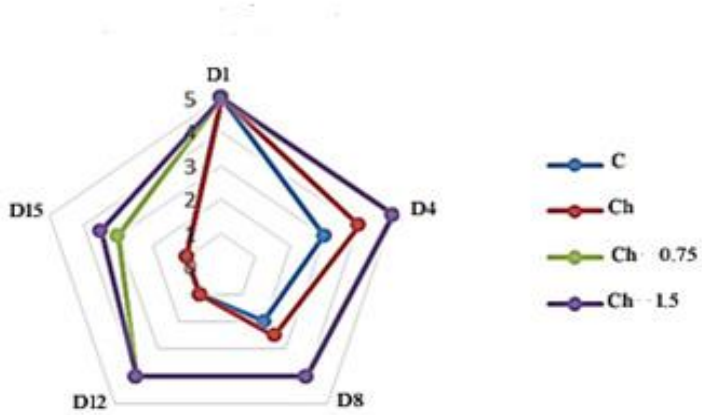
(C: uncoated salmon, Ch: 2% chitosan-coated salmon, Ch0.75: chitosan-coated salmon contains Ginger essential oil with a concentration of 0.75%, Ch1.5: salmon coated with chitosan plus essential oil with a concentration of 1.5%



شکل ۱۱- تغییرات طعم در تیمارهای مختلف در ماهی قزل‌آلا طی ۱۵ روز نگهداری در شرایط یخچال

(C: ماهی قزل‌آلای فاقد پوشش، Ch: ماهی قزل آلای دارای پوشش کیتوزان ۲ درصد، Ch0.75: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل با غلظت ۰/۷۵ درصد، Ch1.5: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان به علاوه‌ی روغن فرار با غلظت ۱/۵ درصد)

Fig. 11. Changes in taste in different treatments in salmon during 15 days of storage in refrigerator conditions
(C: uncoated salmon, Ch: 2% chitosan-coated salmon, Ch0.75: chitosan-coated salmon contains Ginger essential oil with a concentration of 0.75%, Ch1.5: salmon coated with chitosan plus essential oil with a concentration of 1.5%).



شکل ۱۲- تغییرات پذیرش کلی در تیمارهای مختلف در ماهی قزل‌آلا طی ۱۵ روز نگهداری در شرایط یخچال

(C: ماهی قزل‌آلای فاقد پوشش، Ch: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان ۲ درصد، Ch0.75: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان حاوی روغن فرار زنجبیل با غلظت ۰/۷۵ درصد، Ch1.5: ماهی قزل‌آلای دارای پوشش کیتوزان به علاوه‌ی روغن فرار با غلظت ۱/۵ درصد)

Fig. 12. Overall acceptance changes in different treatments in salmon during 15 days of storage in refrigerator conditions
(C: uncoated salmon, Ch: salmon coated with 2% chitosan, Ch0.75: coated salmon Chitosan containing Ginger essential oil with a concentration of 0.75%, Ch1.5: salmon coated with chitosan plus essential oil with a concentration of 1.5%)

نتیجه‌گیری

در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت استفاده از پوشش کیتوزان توام با روغن‌های فرار زنجبیل دارای خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی بوده که می‌تواند ضمن کاهش اکسیداسیون چربی‌ها و بار میکروبی، در حفظ کیفیت ارگانولپتیکی و افزایش مدت ماندگاری گوشت ماهی در دمای یخچال مؤثر باشد. بر اساس نتایج بهترین تیمار، استفاده از کیتوزان به همراه ۰/۷۵ درصد روغن فرار زنجبیل است، چون با استفاده از مقدار کمتر روغن فرار، می‌توان خصوصیات میکروبی، شیمیایی و ارگانولپتیک را تا روز پانزدهم در حد استاندارد نگه داشت.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله هیچگونه تعارض منافعی با یکدیگر ندارند.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد برای حمایت از این طرح و آقای مهندس یداله خسروی کارشناس آزمایشگاه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی جهت همکاری در انجام آزمون‌ها قدردانی می‌کنند.

میزان مشارکت

الناز مهرابی: جمع‌آوری داده‌ها، **مجتبی بنیادیان:** مفهوم‌سازی، روش‌شناسی و نوشتن، **عزیزاله فلاح:** آماده‌سازی پیش‌نویس اصلی.

منابع تأمین مالی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد به شماره ثبت ۹۸۱۱۰۴۴۱۲، به تاریخ ۱۴۰۲/۲/۲۱، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، تأمین مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد.

References

1. Amiza, M.A., & Kang, W.C. (2013). Effect of chitosan on gelling properties, lipids oxidation,and microbial load of surimi gel made from African catfish (*Clarias gariepinus*). *International Food Research Journal*, *20*(4), 1585-1594.
2. Angiolillo, L., Conte, A., & Del Nobile, M.A. (2018). A new method to bio- preserve sea bass fillets. *International Journal of Food Microbiology*, *271*, 60-66. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.010
3. Ass, F., Jafarizadeh-Malmiri, H., Ajamein, H., Vaghari, H., Anarjan, N., & Ahmadi, O. (2017). Chitosan magnetic nanoparticle for drug delivery systems. *Critical Reviwes in Biotechnology*, *37*(4), 492-509. https://doi.org/10.1080/07388551.2016.1185389
4. Atarés, L., Bonilla, J., & Chiralt A. (2010). Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engenearing*, *100*(4), 678-87. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.05.018
5. Cai, L., Li, X., Wu, X., Lv, Y., Liu, X., & Li, J. (2014). Effect of chitosan coating enriched with ergothioneine on quality changes of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicas*). *Food and Bioprocess Technology*, *7*(8), 281-90. https://doi.org/10.1007/s11947-013-1215-4
6. Chemat, F., Vian, M.A., Fabiano-Tixier, A.S., Nutrizio, M., Jambrak, A.R., & Munekata, P.E. (2020). A review of sustainable and intensified techniques for extraction of food and natural prouct. *Green Chemistry*, *22*(8), 2325-53. https://doi.org/10.1039/C9GC03878G
7. Dehghani, S., Hosseini, S.V., & Regenstein, J.M. (2018). Edible films and coatings in seafood preservation: A review. *Food Chemistry*, *240*, 505-13. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.034
8. Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y., & Chi, Y. (2009). Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*, *115*(1), 66-70. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.060
9. Farjami, B., & Hosseni, S.V. (2014). The effect of thyme extract (*Zataria multiflora*) on the microbial and chemical quality of surimi common carp (*Cyprinus carpio*) during refrigerated storage (1±4°C). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, *3*(1), 55-66. (In Persian)
10. Fazlara, A., Pourmahdi, B., & Zarei, S. (2017). The effect of edible chitosan-rosemary coating on the quality and shelf-life of fresh chicken fillet at refrigerator temperature. *Iranian Veterinary Journal*, *13*(1), 78-90. (In Persian). https://doi.org/10.22055/IVJ.2017.17675.1453
11. Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., & Georgakis, S.A. (2007). Effect of rosemary extract,chitosan and a-tocopherol on microbiological parameters and lipid- oxidation of fresh pork sausages stored at 4 C. *Meat Sciences*, *76*(1), 172-81. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.10.026
12. Giacometti, J., Kovačević, D.B., Putnik, P., Gabrić, D., Bilušić, T., & Krešić, G. (2018). Extractin of bioactive compounds and essential oils from Mediterranean herbs by conventional and green innovative techniques: A review. *Food Research International Journal*, *113*, 245-62. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.036
13. Giatrakou, V., Ntzimani, A., & Savvaidis, I.N. (2016). Effect of chitosan and thyme oil on a ready to cook chicken product. *Food Microbiology*, *27*(1), 132-6. https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.09.005
14. Gimenez, B., Roncales, P., & Beltran, J.A. (2002). Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal of Science and Food Agriculture*, *82*(10), 1154-59. https://doi.org/10.1002/jsfa.1136
15. Goulas, A.E., & Kontominas, M.G. (2007). Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, *100*(1), 287-96. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.045

16. Hassan, B., Chatha, S.A., Hussain, A.I., Zia, K.M., & Akhtar, N. (2018). Recent advances on polysaccharids, lipids and proteins based edible films and coatings: A review. *International Journal of Biological Macromolecules, 109*, 1095-1107. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.097
17. Hassanzadeh, P., Moradi, M., Vaezi, N., Moosavy, M.H., & Mahmoudi, R. (2018). Effects of chitosan edible coating containing grape seed extract on the shelf-life of refrigerated rainbow trout fillet. *Veterinary Research Forum, 9*(1), 73–79. PMID:29719667
18. Hernández, M.D., López, M.B., Álvarez, A., Ferrandini, E., Garcia, B., & Garrido, M.D. (2009). Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meager (*Argyroso musregius*) fillets during ice storage. *Food Chemistry, 114*(1), 237-45. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.045
19. Krochta, J.M. (2017). *Food Proteins and their applications*. 3[st] ed. CRC Press. London, UK.
20. Leyva-López, N., Gutiérrez-Grijalva, E.P., Vazquez-Olivo, G., & Heredia, J.B. (2017). Essential oils of oregano: Biological activity beyond their antimicrobial properties. *Molecules, 22*(6), 989-96. https://doi.org/10.3390%2Fmolecules22060989
21. Mahboubi, M. (2019). *Zingiber officinale* Rosc essential oil, a review on composition and bioactivity. *Clinical Phytosciences, 5*(6), 1-12. https://doi.org/10.1186/s40816-018-0097-4
22. Manju, S., Jose, L., Gopal, T.S., Ravishankar, C.N., & Lalitha, K.V. (2007). Effects of sodium acetate dip treatment and vacuum-packaging on chemical, microbiological, textural and sensory changes of Pearlspot (*Etroplus suratensis*) during chill storage. *Food Chemistry*, *102*(1), 27-35. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.037
23. Noori, S., Zeunali, F., & Almasi, H. (2018). Antimicrobial and antioxidant efficiency of nanoemulsion-based edible coating containing ginger (*Zingiber officinale*) essential oil and its effect on safety and quality attributes of chicken breast fillets. *Food Control, 84*, 312-20. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.08.015
24. Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., & Hosseini, S.M. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry, 120*(1), 193-98. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.006
25. Pateiro, M., Munekata, P.E., Sant'Ana, A.S., Dominguez, R., Rodriguez-Lázaro, D., & Lorenzo, J.M. (2021). Applicaton of essential oils as antimicrobial agents against spoilage and pathogenic microorgaisms in meat products. *International Journal of Food Microbiology, 337*, 108966. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108966
26. Petrou, S., Tsiraki, M., Giatrakou, V., & Savvaidis, I.N. (2012). Chitosan dipping or oregano oil treatments, singly or combined on modified atmosphere packaged chicken breast meat. *International Journal of Food Microbiology, 56*(3), 264-71. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.002
27. Putnik, P., Lorenzo, J.M., Barba, F.J., Roohinejad, S., Reẑek Jambrak, A., & Granato, D. (2018). Novel food processing and extraction technologies of high-added value compounds from plant materials. *Foods*, *7*(7), 106. https://doi.org/10.3390/foods7070106
28. Rajabian, M., Bonyadian, M., Abbasvali, M., & Khanjari, A. (2019). Effects of potato starch edible coating containing *Ziziphora clinopodioides* and *Thymus daenensis* essential oils on chemical organoleptic properties of chicken breast. *Journal of Veterinary Research, 74*(4), 450-463. https://doi.org/10.22059/jvr.2018.237327.2662
29. Ramanathan, L., & Das, N.P. (1992). Studies on the control of lipid oxidation in ground fish by some polyphenolic natural products. *Journal of Agriculture Food Chemistry, 40*(1), 17-21. https://doi.org/10.1021/jf00013a004
30. Richards, M.P., & Hultin, H.O. (2002). Contributions of blood and blood components to lipid oxidation in fish muscle. *Journal of Agricultural Food Chemistry, 50*(3), 555-64. https://doi.org/10.1021/jf010562h
31. Shadman, S., Hosseini, S.E., Langroudi, H.E., & Shabani, S. (2017). Evaluation of the effect of a sunflower oil-based nanoemulsion with *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on the physicochemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during cold storage. *LWT-Food Sciences and Technology*, *79*, 511-17. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.073
32. Sotelo-Boyás, M.E., Correa-Pacheco, Z.N., Bautista-Banos, S., & Corona-Rangel, M.L. (2017). Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles and nanocapsules incorporated with lime essential oil and their antibacterial activity againt food-borne pathogens. *LWT*, *77*, 15-20. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.022
33. 32.Yuan, G., Zhang, X., Tang, W., & Sun, H. (2016). Effect of chitosan coating with green tea extract on the melanosis and quality of Pacific white shrimp during storage in ice. *Cyta Food Journal*, *14*(1), 35-40. https://doi.org/10.1080/19476337.2015.1040459
34. Zolfaghari, M., Shabanpour, B., & Falahzadeh, S. (2010). Comparison of *Zataria multiflora*, Onion and Ziziphora extracts on the shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Food Sciences and Technology, 12*(2), 121-129. (In Persian). https://doi.org/10.22067/ifstrj.v6i2.7821